



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**

**AMANDA SANTOS DE OLIVEIRA**

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS IRREGULARES EM PACIENTES  
POLITRANSFUNDIDOS EM HEMOCENTROS NO BRASIL: UMA REVISÃO  
NARRATIVA**

**SÃO CRISTÓVÃO – SE**

**2016**

**AMANDA SANTOS DE OLIVEIRA**

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS IRREGULARES EM PACIENTES  
POLITRANSFUNDIDOS EM HEMOCENTROS NO BRASIL: UMA REVISÃO  
NARRATIVA.**

Projeto de monografia apresentada à disciplina de TCC, como requisito de conclusão do curso de graduação em Farmácia da Universidade Federal de Sergipe desenvolvida sob a orientação da Prof.<sup>a</sup> Dulce Marta Schimieguel Mascarenhas Lima.

**SÃO CRISTÓVÃO – SE**

**2016**

## **Lista de Tabelas, Gráficos e Figuras**

**Tabela 1-** Principais dados dos Artigos encontrados na Revisão Sistemática

**Tabela 2-** Frequência de Anticorpos Irregulares

**Gráfico1-** Gráfico dos Pacientes Politransfundidos

**Figura 1-** Proteínas RhD, RhCE e RhAg

**Figura 2:** Representação Esquemática de Antígenos de Grupos Sanguíneos e suas funções biológicas

**Figura 3:** Posição genômica relativa dos genes HLA dentro da região do braço curto do cromossomo 6, que contém o MHC humano, classes I (A) e II (B). Cadeias peptídicas das moléculas de MHC de classe I e classe II (C). Roteiro para interpretação da nomenclatura das especificidades e alelos do Complexo de Histocompatibilidade Principal MHC (D)

## Sumário

Resumo .....	5
Abstract.....	6
1. Introdução .....	7
2. Revisão da Literatura .....	9
2.1 Antígenos eritrocitários.....	9
2.2 Anticorpos antieritrocitários .....	16
2.3- O Complexo de histocompatibilidade principal.....	17
3.0 Objetivos .....	20
3.1 Objetivo Geral.....	20
3.2 Objetivos Específicos.....	20
4.0 Metodologia.....	21
4.1 Tipologia da pesquisa .....	21
4.2 Critérios de inclusão/exclusão .....	21
4.3 Seleção de descritores.....	21
4.4. Estratégia de busca.....	21
4.5 Fluxograma da Metodologia.....	22
5.0 Resultados e Discussão.....	23
6.0 Conclusão.....	27
7.0 Referências Bibliográficas .....	<u>28</u>

## **LISTA DE SIGLAS**

**O<sub>2</sub>**: Gás Oxigênio

**CO<sub>2</sub>** : Gás Carbônico

**HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>** : Íon bicarbonato

**Cl<sup>-</sup>** : Íon cloreto

**IgG**: Imunoglobulina tipo G

**MHC** :Complexo Principal de Histocompatibilidade

**HLA** : Antígeno Leucocitário Humano

**APC** : Células Apresentadoras de Antígeno

**PAI** : Pesquisa de Anticorpos Irregulares

## RESUMO

A descoberta dos antígenos eritrocitários foi considerada um dos avanços mais importantes nas pesquisas da área médica, na primeira metade do século XX. Desde que o sistema ABO foi identificado, em 1900, foram descritos mais de 250 antígenos eritrocitários, organizados em sistemas. Os anticorpos antieritrocitários classificam-se em regulares e irregulares. Os primeiros se desenvolvem naturalmente após o nascimento, como anti-A, anti-B e anti-AB, todos do sistema ABO. Os irregulares (sistemas Rh, Kell, MNS, Lewis, Duffy, Kidd e outros) se desenvolvem em decorrência de transfusões ou gestações incompatíveis, não sendo encontrados normalmente. O presente trabalho teve como objetivo analisar a frequência dos anticorpos antieritrocitários irregulares em pacientes politransfundidos em Hemocentros no Brasil. Trata-se de uma pesquisa descritiva, exploratória, retrospectiva com abordagem quantitativa. Na abordagem quantitativa foi realizada uma pesquisa de artigos publicados no Brasil no período de 2008 a 2015. Foram analisados sete artigos científicos e um relato de caso, publicados no Brasil, totalizando 1.337 anticorpos irregulares descritos em todos os trabalhos. Quanto à frequência dos anticorpos, verificou-se que as imunoglobulinas do Sistema Rh estão entre as mais frequentes, anti-D (27,45%), anti-E (24,60%), apresentando 71,45% do total de anticorpos irregulares identificados. Os anticorpos irregulares do Sistema Kell vêm em segundo lugar com a frequência do anti-K igual a 11%. Os testes mais utilizados na Pesquisa de Anticorpos Irregulares foram o de Coombs direto e indireto e a técnica de gel-centrifugação. Na identificação dos Anticorpos Antieritrocitários Irregulares foi utilizado o painel de hemácias marcadas, e a técnica de gel-centrifugação. As enfermidades associadas à transfusão mais citadas foram anemia falciforme (47%), doenças oncológicas (12%) e anemia por hemorragia aguda (12%). Com o aumento do emprego das transfusões sanguíneas em cirurgias, transplantes e tratamento clínico do câncer, passou-se a observar um aumento da ocorrência de aloimunização nos indivíduos politransfundidos. Este estudo mostra a importância da pesquisa e identificação de anticorpos irregulares em doadores e receptores para diminuir o risco de aloimunização em pacientes politransfundidos. Ela é uma ferramenta muito importante e que tem como objetivo aumentar a segurança das transfusões sanguíneas realizadas no âmbito hospitalar.

Palavras-chave: Aloimunização; anticorpos irregulares; pacientes politransfundidos.

## ABSTRACT

The discovery of the red cell antigens was considered one of the most important advances in the medical area of research in the first half of the twentieth century. Since the ABO system was identified in 1900, were described more than 250 red cell antigens, organized into systems. The erythrocyte antibodies are classified into regular and irregular. Regular develop naturally after birth, as anti-A, anti-B and anti-AB, all of the ABO system. Irregular (Rh systems, Kell, MNS, Lewis, Duffy, Kidd and others) develop as a result of transfusions or incompatible pregnancies and is not usually found. This study aims to analyze the frequency of irregular erythrocyte antibodies in patients who have had multiple blood transfusions in Blood Centers of Brazil. This is a descriptive, exploratory, retrospective with a quantitative approach. The quantitative approach was made with articles published in Brazil from 2008 to 2015. Seven scientific articles were analyzed and a case report, published in Brazil, totalizing 1,337 irregular antibodies described in all works. About the frequency of antibodies, it could be verified that the system of Rh immunoglobulin are among the most frequent, Anti-D (27.45%), Anti-E (24.60%) were the most frequent, with 71, 45% of the identified irregular antibodies. Irregular antibodies of the Kell system come second to the frequency of anti-K equal to 11%. The most used tests in Search were the direct and indirect Coombs and gel-spinning technique. In the identification of irregular antibodies was used erythrocytic the panel labeled red blood cells and gel-spinning technique. The most frequently diagnosed diseases associated with transfusions were sickle cell anemia (47%), oncologic diseases (12%), anemia and acute bleeding (12%). This study indicates that, in transfused patients, those most frequently AI were the Anti-D alloantibodies Rh system, probably due to its high degree of immunogenicity. With the increasing use of blood transfusions in surgery, transplantation and clinical treatment of cancer, we started to see an increase in the incidence of alloimmunization in multiple transfusions individuals. This study shows the importance of research and identification of irregular antibodies in donors and recipients to decrease the risk of alloimmunization in patients with multiple transfusions. It is a very important tool that aims to increase the safety of blood transfusions performed in hospitals.

**Keywords:** Alloimmunization, irregular antibodies, multitransfused patients.

## 1-INTRODUÇÃO

Os antígenos eritrocitários são estruturas macromoleculares localizadas na membrana dos glóbulos vermelhos (hemácias ou eritrócitos), podendo ser de natureza protéica, glicoprotéica ou glicolipídica (ALVES, 2010). Muitas funções importantes são desempenhadas por estes antígenos, tais como: estruturais, transportadores (sistemas Diego, Kidd), receptores e moléculas de adesão (sistemas Duffy e MNS), enzimática (sistemas Kell), proteínas controladoras do complemento, entre outras (BONIFÁCIO, 2009).

O sistema de grupos sanguíneos ABO descoberto em 1900 pelo médico austríaco Karl Landsteiner marcou a história naquela época, visto que é o mais importante na prática transfusional (GIRELLO *et al*, 2002). Além do sistema ABO, existem outros sistemas de grupos sanguíneos de importância transfusional. A formação destes antígenos se dá por uma quantidade de aproximadamente 39 genes de grupos sanguíneos que foram identificados, envolvidos na sua produção. Já são conhecidos 328 antígenos de diferentes grupos sanguíneos, 282 dos quais estão organizados em 30 sistemas (BONIFÁCIO, 2009; BAPTISTA, 2010).

Essa diversidade antigênica é uma das causas da formação dos anticorpos irregulares. Por isso, com o aumento das transfusões sanguíneas em cirurgias, transplantes, tratamento clínico do câncer, a partir da década de oitenta, passou-se a observar um aumento da ocorrência de aloimunização nos pacientes politransfundidos (MARTINS, 2008).

O processo de aloimunização é quando um indivíduo sofre exposição a eritrócitos alogeneicos (estranhos), com fenótipo diferente, através de transfusões sanguíneas, gestações e transplantes de órgãos/tecidos ou enxertos (BAIOCHI, 2009). A aloimunização é uma resposta imune de seu organismo a esses antígenos estranhos, com produção de aloanticorpos (anticorpos irregulares) (ALVES, 2010).

Os anticorpos antieritrocitários classificam-se em regulares e irregulares. Os regulares se desenvolvem naturalmente após o nascimento. Os irregulares (sistemas Rh, Kell, MNS, Lewis, Duffy, Kidd e outros) se desenvolvem em decorrência de transfusões ou gestações incompatíveis (MARTINS, 2008).



Com o aumento da expectativa de vida e o desenvolvimento tecnológico, vêm se observando ampliação no número de doenças crônico-degenerativas e cirurgias mais complexas que requerem maior quantidade de transfusões sanguíneas, o que tem aumentado a frequência de aloanticorpos antieritrocitários não pertencentes ao sistema ABO (SERRANO,1990; SCHONEWILLE, VAN DE WATERING, BRAND,2006). Isso resulta, muitas vezes, em dificuldades em se encontrar sangue compatível, além de aumentar os riscos de reações hemolíticas tardias (SANTOS, MAGALHÃES, MOTA, PITOMBEIRA, 2007; THAKRAL, SALUJA, SHARMA, MARWAHA ,2008).

Tais fatos motivaram a realização deste estudo, onde os objetivos foram verificar a frequência de anticorpos irregulares em pacientes politransfundidos em Hemocentros do Brasil no período de 2008 a 2015.

## **2- REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 ANTÍGENOS ERITROCITÁRIOS**

O eritrócito é uma das células mais especializadas, sendo considerada tradicionalmente como transportadora de oxigênio. Apresenta em sua superfície várias moléculas que são ativadas de acordo com os processos fisiológicos (GAMBERO et al; 2004).

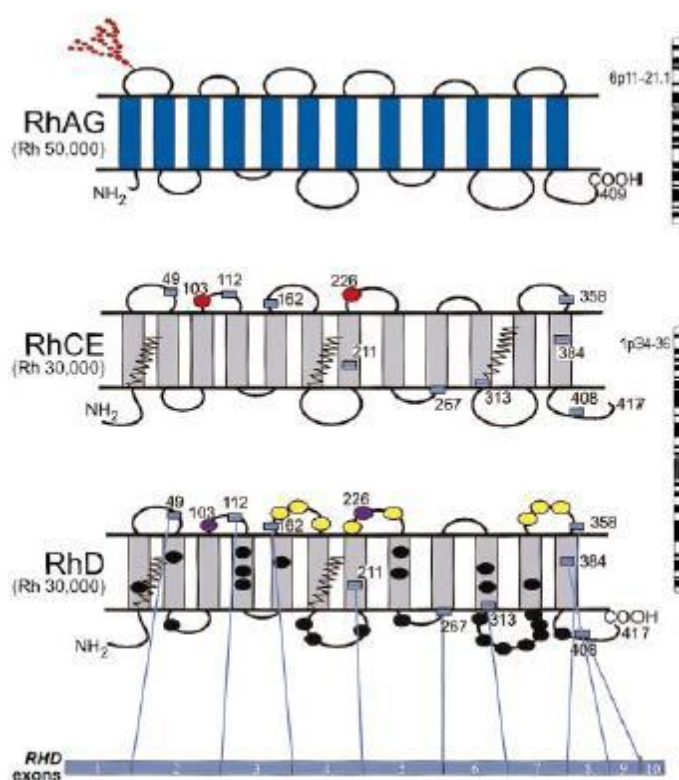
Os sistemas de grupos sanguíneos ABO descobertos em 1900 por Karl Landsteiner, marcaram o início da grande individualidade dos antígenos eritrocitários presentes na membrana do eritrócito, e até hoje permanecem como sendo os sistemas mais importantes dentro da prática transfusional. A transfusão de um tipo ABO incorreto pode resultar na morte do paciente, com uma reação hemolítica intravascular, seguida de alterações imunológicas e bioquímicas (SECCO; 2004).

Os antígenos que compõem o sistema ABO estão presentes nos glicolipídeos e glicoproteínas membranares de diversos tecidos, além das hemácias (FERREIRA; 2004). Podem também ser encontrados em secreções e outros fluídos (saliva, lágrimas, urina, sucos digestivos, leite e líquido amniótico), órgãos como medula óssea e rins, linfócitos e plaquetas, sendo por isso considerados antígenos de histocompatibilidade (SECCO; 2004).

Até o momento, 989 alelos de 39 genes de grupos sanguíneos foram identificados, o que tem desvendado aspectos sobre a funcionalidade e importância da expressão das proteínas que carregam antígenos na membrana eritrocitária (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

*Sistema de Grupo Sanguíneo Rh:* Os antígenos do sistema Rh estão expressos em duas proteínas, produtos de dois genes altamente homólogos RHD e RHCE, localizados no cromossomo 1. A proteína RhD expressa o antígeno D e a proteína RhCE expressa os antígenos CE em várias combinações (ce, Ce, cE ou CE). A expressão dos antígenos Rh na superfície dos eritrócitos depende da presença da glicoproteína Rh-associada (RhAG), produto do gene RHAG localizado no cromossomo 6. Os genes RHD e RHCE possuem aproximadamente 30% de sequências idênticas à RHAG (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

As proteínas RhD, RhCE e RhAG são proteínas de membrana integrais, atravessam a membrana eritrocitária 12 vezes e estão associadas em um complexo Rh. As proteínas RhD e RhCE não são glicosiladas e os epítomos específicos que definem os antígenos do sistema Rh estão localizados nas alças extracelulares das proteínas. A proteína RhAG possui uma estrutura similar às proteínas Rh, porém possui o N-glican asparagina-37, que carrega os antígenos do sistema ABH e Ii. Análises estruturais recentes têm sugerido que o complexo de proteínas Rh forma uma estrutura trimérica (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).



**Figura 1** - Proteínas RhD, RhCE e RhAg.

As proteínas RhD, RhCE e RhAg atravessam a membrana eritrocitária seis vezes. Dos aminoácidos específicos do antígeno D, 8 estão na superfície exofacial (●) e 24 em domínios transmembrana ou citoplasmáticos (○). Círculos vermelhos (●) representam aminoácidos críticos para os antígenos C/c (Ser103Pro) e E/e (Pro226Ala), da proteína RhCE. (AVENT & REID, 2000).

Dois outros genes da família de genes RH, RHBG e RHCG, ambos com aproximadamente 50% de sequência idêntica ao gene RHAG, produzem duas glicoproteínas não eritróides, RhBG e RhCG, presentes nos rins, fígado, pele e cérebro. As proteínas Rh apresentam homologia e similaridade com a família de proteínas

transportadoras de amônia em bactérias, leveduras e plantas, fazendo com que o mecanismo de transporte de amônia seja extensivamente estudado. Parece que as proteínas Rh funcionam também como um complexo integrado de troca  $O_2/CO_2$  devido à associação entre a banda 3 e o complexo Rh na membrana eritrocitária (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

O complexo Rh mantém ainda interações através de ligações não-covalentes com outras proteínas, incluindo CD47, glicoforina B, LW(ICAM-4) e possivelmente a glicoproteína Duffy (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

O domínio C-terminal das proteínas Rh e RhAG interage com a anquirina, sendo uma importante associação do complexo Rh com a Banda 3. Devido a essas interações, indivíduos com o fenótipo Rh nulo podem ter uma síndrome caracterizada por anemia hemolítica crônica, de intensidade variável, aumento na fragilidade osmótica e anormalidades na morfologia dos eritrócitos (estômatoesferocitose) (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

*Sistema de Grupo Sanguíneo Diego:* Os antígenos do sistema de grupo sanguíneo Diego estão localizados na banda 3, a principal e a mais abundante proteína integral na membrana dos eritrócitos com 106 cópias por célula. (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009). A proteína banda 3 é codificada pelo gene SLC4A1 (Solute Carrier Family 4/ Anion Exchanger 1), localizado no cromossomo 17q21-q22, pertence à família dos genes transportadores de ânions e é composta por 911 aminoácidos (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

Os resíduos 1-403 da proteína banda 3 formam o domínio citoplasmático N-terminal, que funciona como um ponto de ancoragem para o citoesqueleto da membrana através de interações com as proteínas de membrana periféricas anquirina, 4.1R e 4.2, sendo esta a principal função deste domínio. Serve também como sítio de ligação para enzimas glicolíticas como gliceraldeído- 3-fosfato desidrogenase, fosfofrutoquinase e aldose, bem como para hemoglobina, catalase e hemicrises (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

Os resíduos 509-911 da banda 3 são responsáveis pelo domínio citoplasmático C-terminal, que atravessa a membrana de 12 a 14 vezes, gerando seis a sete alças extracelulares, formando um canal que troca íons  $HCO_3^-$  e  $Cl^-$ , facilitando a função dos

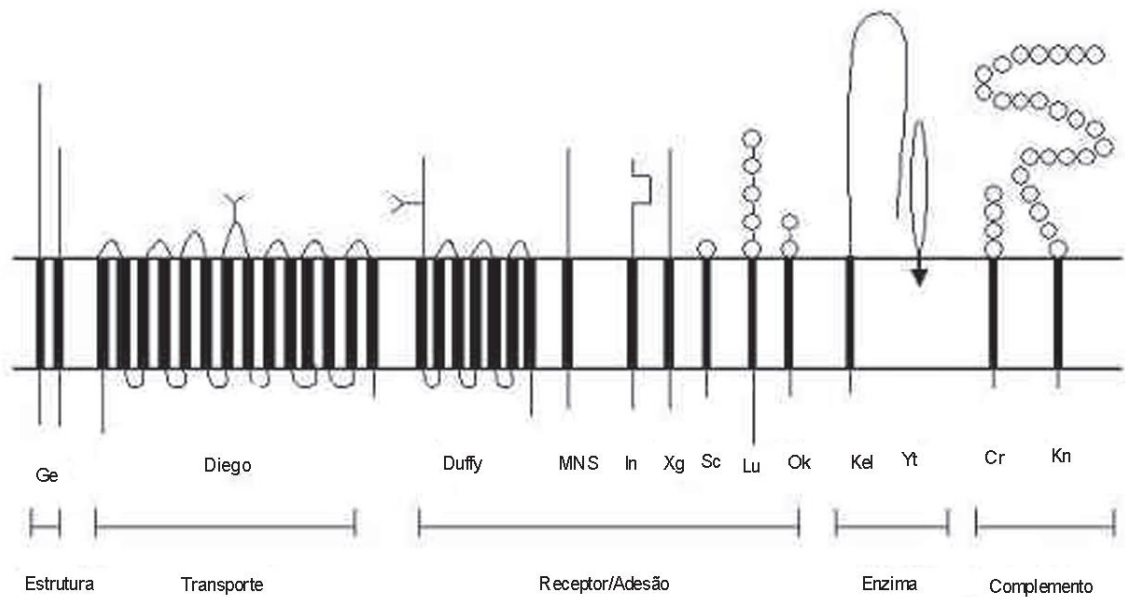
eritrócitos na retirada CO<sub>2</sub> dos tecidos e, subsequentemente, liberarem CO<sub>2</sub> nos pulmões através da anidrase carbônica II.12 A quarta alça extracelular da banda 3 tem uma cadeia N-glican que carrega mais da metade dos antígenos A, B, H e I dos eritrócitos (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

A função de troca iônica também é importante na manutenção do pH renal, onde a banda 3 está localizada na membrana basolateral das células intercaladas nos túbulos distais e nas alças de Henle, sendo que anormalidades na banda 3 causam acidose renal distal (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

O N-terminal da banda 3 tem uma importante associação com o citoesqueleto da membrana, conferindo a função de integridade estrutural da membrana dos eritrócitos, que, quando alterada, modifica a forma dos eritrócitos, como demonstrado em pessoas com esferocitose hereditária e em ovalocitose do sudeste da Ásia (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

A banda 3 tem ainda interações com a proteína de membrana glicoforina A (GPA) e sugere-se que a presença ou a ausência de GPA pode afetar a eficácia do transporte de ânions (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

Além dessas funções, a banda 3 pode estar envolvida em ação senescente dos eritrócitos. Os hemicrises, uma das formas desnaturadas da hemoglobina, ligam-se à banda 3 formando agregados, que, por sua vez, geram epítomos multivalentes sobre a superfície eritrocitária, no qual, no retorno sanguíneo, podem ser reconhecidos por autoanticorpos IgG promovendo a remoção das células antigas da circulação (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).



**Figura 2:** Representação esquemática de antígenos de grupos sanguíneos conforme suas funções biológicas(BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

*Sistema de Grupo Sanguíneo Kidd:* O gene JK ou SLC14A1 (conhecido como HUT11) está localizado no locus 18q12.3 e é um gene da família de transportadores de uréia. O gene JK codifica a glicoproteína Kidd, que atravessa a membrana dez vezes, carrega um N-glican na terceira alça extracelular e expressa os antígenos do sistema de grupo sanguíneo Kidd (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

A possibilidade de que a proteína carreadora dos antígenos de grupo sanguíneo Kidd transporte uréia tem base em observações de que eritrócitos Jk(a-b-) são relativamente resistentes à lise por uréia 2M. A glicoproteína Kidd funciona transportando uréia rapidamente, intra e extraeritrocitária, quando os eritrócitos atravessam altas concentrações de uréia na medula renal, prevenindo dessa forma a desidratação (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

*Sistema de Grupo Sanguíneo Duffy:* O gene FY está localizado no locus 1q22-q23, é responsável pela glicoproteína Duffy, também chamada DARC (Duffy Antigen Receptor for Chemokines), expressa em células eritróides e não eritróides. A glicoproteína Duffy possui sete domínios transmembranares, porém não apresenta a função de transporte, pois a região N- terminal está orientada para a superfície exofacial (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

Os antígenos Duffy têm função de receptor de merozoítas de *Plasmodium vivax* em humanos e de *P. knowlesi* em macacos (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

A glicoproteína Duffy é uma receptora de citocinas nos eritrócitos, liga uma variedade de quimiocinas pró-inflamatórias agudas e crônicas, incluindo interleucina 8, MGSA, MIP-1 e Rantes (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

Os receptores DARC estão potencialmente envolvidos na angiogênese do câncer em pré-eclâmpsia e em hipertensão maligna (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

*Sistema de Grupo Sanguíneo MNS:* As glicoforinas GPA e GPB são proteínas do tipo I, codificadas por genes homólogos, GYPA e GYPB, localizados no cromossomo 4. O alto nível de homologia entre GYPA e GYPB e o envolvimento de um terceiro gene, GYPE, aumentam as chances de recombinações gênicas, gerando glicoforinas híbridas. Ambas as proteínas contêm resíduos de carboidratos com elevado conteúdo de ácido siálico, carregando alta carga negativa, prevenindo dessa forma a aglutinação espontânea dos eritrócitos e, portanto, são as que mais contribuem para o glicocálix (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

A GPA expressa os antígenos M e N tem um número elevado de cópias ( $\sim 10^6$  cópias por eritrócito) e é tão abundante quanto a banda 3 na superfície eritrocitária. O alto conteúdo de ácido siálico na GPA serve como ligante para vírus, bactérias e parasitas e é um fator crítico no processo de invasão pelo *Plasmodium falciparum*. Células que não expressam GPA (En(a-) e MkMk) são mais resistentes à invasão pelo *Plasmodium falciparum* do que células normais. GPA interage com a Banda 3 resultando na expressão do antígeno  $W_r^b$  (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

A GPB expressa os antígenos S e s e tem menor densidade antigênica ( $2-3 \times 10^5$  cópias por eritrócito) do que GPA. A GPB está ausente em células MkMk e naquelas com o fenótipo S-s-U- (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

*Sistema de Grupo Sanguíneo Lutheran:* Os antígenos do sistema de grupo sanguíneo Lutheran estão expressos em duas proteínas (Lu e B-CAM), produtos do gene Lu localizado no cromossomo 19 e que diferem entre si somente no tamanho do domínio citoplasmático. Ambas as proteínas possuem o domínio N-terminal extracelular, contendo cinco domínios da superfamília das imunoglobulinas ligados por pontes dissulfeto (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

As glicoproteínas Lu/B-CAM estão amplamente expressas em outros tecidos, e nos eritrócitos são receptoras para laminina, uma proteína presente em todas as membranas celulares (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

Os eritrócitos de pacientes com doença falciforme expressam aproximadamente mais da metade das glicoproteínas Lu/B-CAM do que eritrócitos normais e estão associadas com a oclusão vascular nesses pacientes devido à aderência dos eritrócitos com as células do endotélio vascular. Estudos têm demonstrado que as glicoproteínas Lu/B-CAM estão expressas em maior quantidade em diferentes tumores malignos e podem estar envolvidas, junto com outras proteínas receptoras de adesão, em metástase tumoral (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

*Sistema de Grupo Sanguíneo Kell:* Os antígenos do sistema de grupo sanguíneo Kell estão expressos na glicoproteína Kell, produto do gene KEL localizado no cromossomo 7. Essa glicoproteína possui sequência homóloga com a família de endopeptidases neutras (Neprilina zinco-metaloproteinase), uma enzima conversora de endotelina 3, podendo clivar também os precursores de endotelinas 1 e 2, porém com menos eficiência. Endotelinas são potentes vasoconstritores e é possível que a glicoproteína Kell esteja envolvida com a regulação do tono vascular (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

A glicoproteína Kell é expressa principalmente na linhagem eritróide e testículos e menor expressão no cérebro, tecidos linfóides e coração (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

*Sistema de Grupo Sanguíneo ABO:* Os antígenos ABO, embora sejam os mais importantes na prática transfusional não têm a fisiologia elucidada. A expressão dos antígenos ABO depende da atividade de glicosiltransferases específicas codificadas pelo gene ABO, localizado no cromossomo 9q34.1-34.2 (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

Os antígenos de carboidratos A, B, H, bem como Le e P1 estão presentes em outras superfícies celulares, além dos eritrócitos, e também são encontrados em outros animais, bactérias e em algumas plantas (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).



Recentemente foram publicadas evidências de que variações nas glicosiltransferases ABO aumentam o risco para infestações por *Plasmodium falciparum*, enquanto o grupo O protege dessa infestação (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

Em pacientes leucêmicos foi reportado grande número de polimorfismos ABO ainda não descritos na literatura, tendo sido postulado que os antígenos ABO tenham algum papel potencial no processo de leucemogênese (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

*Sistema de Grupo Sanguíneo Lewis:* Os antígenos Lewis são provenientes do plasma e adsorvidos nos eritrócitos. A sua expressão depende da interação de duas fucosiltransferases diferentes, produtos dos genes FUT2 e FUT3 localizados no cromossomo 19p13.3. Estão expressos em muitos tecidos humanos, incluindo células da mucosa da superfície gástrica. *Helicobacter pylori*, o maior agente causador de úlceras gástricas, liga-se às células da mucosa da superfície gástrica que contém fucose, especificamente antígenos Leb e H (cadeias tipo 1), sendo o antígeno Leb o receptor predominante para esse organismo (BONIFÁCIO; NOVARETTI; 2009).

## **2.2- ANTICORPOS ANTIERITROCITÁRIOS**

Os anticorpos antieritrocitários classificam-se em regulares e irregulares. Os primeiros se desenvolvem naturalmente após o nascimento, como anti-A, anti-B e anti-AB, todos do sistema ABO. Os irregulares (sistemas Rh, Kell, MNS, Lewis, Duffy, Kidd e outros) se desenvolvem em decorrência de transfusões ou gestações incompatíveis, não sendo encontrados normalmente (MARTINS, 2008).

A aloimunização eritrocitária é uma resposta imunológica contra antígenos eritrocitários estranhos, ocorrendo geralmente devido à sensibilização em transfusões de sangue e gestações. Dentre os aloanticorpos antieritrocitários, os dirigidos contra antígenos dos sistemas Rh, Kell, Duffy e Kidd possuem grande importância clínica, por reagirem a 37 °C e provocarem hemólise no receptor de sangue e no feto ou recém-nascido (ALVES, 2012).

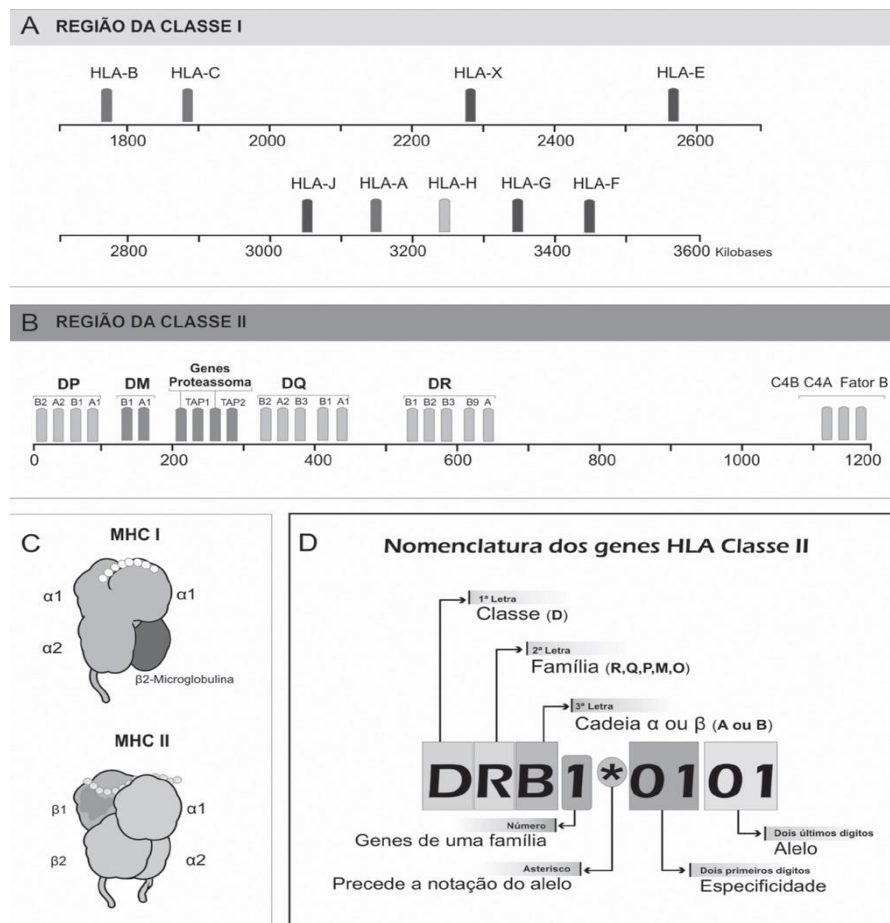
Com o aumento da expectativa de vida e o desenvolvimento tecnológico, vêm se observando ampliação no número de doenças crônico-degenerativas e cirurgias mais complexas que requerem maior quantidade de transfusões sanguíneas, o que tem aumentado a frequência de aloanticorpos antieritrocitários não pertencentes ao sistema ABO. Isso resulta, muitas vezes, em dificuldades em se encontrar sangue compatível, além de aumentar os riscos de reações hemolíticas tardias. Entretanto, na maioria dos serviços de transfusão de sangue, a fenotipagem e compatibilização pré-transfusional para os antígenos mais imunogênicos são normalmente realizadas para transfusões em pacientes portadores de hemopatias crônicas. Adicionalmente, investigações sobre aloimunização eritrocitária são realizadas, na maioria dos casos, apenas antes de novo evento transfusional e muitos aloanticorpos podem não ser descobertos, por não haver novas indicações de transfusão ou porque o título dos anticorpos decai com o decorrer do tempo, atingindo níveis não detectáveis. Contudo, caso no futuro seja necessária outra transfusão e o paciente receba antígeno estranho para o qual já tenha sido sensibilizado, devido à memória imunológica, ele apresentará uma resposta imune secundária, bem mais rápida que a anterior, podendo resultar em reação hemolítica grave (ALVES, 2012).

### **2.3- O COMPLEXO DE HISTOCOMPATIBILIDADE PRINCIPAL**

O complexo de histocompatibilidade principal humano, MHC, é composto por um conjunto de genes altamente polimórficos, denominados complexo HLA (human leukocyte antigen), e compreende mais de 120 genes funcionais, dos quais cerca de 20% estão associados à imunidade. A associação entre doenças autoimunes e genes do MHC reflete o importante papel dessas moléculas no direcionamento da resposta imune. Por seu papel na apresentação de antígenos, o MHC estabelece um elo entre a resposta inata e a resposta adaptativa. No homem, esses genes situam-se no cromossomo 6 e, tradicionalmente, são divididos em classes I, II e III. Apenas os genes de classes I e II estão envolvidos na apresentação de antígenos proteicos para LT. As moléculas de classe I estão presentes na superfície de todas as células nucleadas, enquanto as de classe II são encontradas basicamente nas APCs (macrófagos, DCs e LB). Todas as moléculas de MHC presentes na superfície de uma célula têm um peptídeo associado. Embora as moléculas de classe I e II apresentem características estruturais diversas,

ambas são expressas como heterotrímeros em que duas cadeias são da molécula de MHC e a terceira é o peptídeo apresentado aos LT (Figura 3C). Na região HLA de classe I, existem cerca de 20 genes, e três deles, HLA-A, B e C, são ditos clássicos (Figura 3A). Os genes que codificam as moléculas clássicas do MHC são altamente polimórficos. As moléculas de classe I são constituídas por uma cadeia  $\alpha$ , codificada pelos genes HLA-A, B ou C e uma cadeia pequena, invariável, a  $\beta_2$ -microglobulina. Uma vez que esses genes apresentam codominância, cada indivíduo pode apresentar de três a seis diferentes tipos de moléculas de HLA de classe I na superfície de suas células, codificadas pelos alelos maternos e paternos dos genes HLA-A, B e C.<sup>8</sup> As moléculas de classe I apresentam para os LTs CD8 peptídeos endógenos, isto é, peptídeos derivados de proteínas autólogas no citoplasma (CRUVINEL, MESQUITA et al, 2010).

As moléculas HLA de classe II são constituídas por duas cadeias,  $\alpha$  e  $\beta$ , ambas codificadas por genes polimórficos existentes nas regiões do complexo MHC de classe II (Figura 3B). As cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  das moléculas de classe II são codificadas pelos genes das famílias HLA-DR, DP e DQ. Em geral, uma cadeia  $\alpha$  de um tipo, por exemplo, DR, associa-se com a cadeia  $\beta$  do mesmo tipo, mas pode haver pareamento heterólogo, de modo que, dependendo do grau de homozigose ou heterozigose, um indivíduo pode apresentar na superfície de suas APCs entre 10 e 20 diferentes moléculas de classe II. Na nomenclatura dos genes de classe II, a primeira letra indica a classe (D); a segunda, a família (M, O, P, Q, R); e a terceira, a cadeia A ( $\alpha$ ) ou B ( $\beta$ ). Os genes individuais de cada uma dessas famílias são diferenciados por números, e a nomenclatura completa de uma variante alélica é precedida por um asterisco. Por exemplo, HLA-DRB1\*0101 significa o alelo 0101 do gene 1, que codifica a cadeia  $\beta$  da molécula de classe II da família DR (Figura 3D). As moléculas HLA de classe II apresentam para os LT peptídeos exógenos, isto é, derivados da proteólise de proteínas não autólogas nos fagolisossomos (CRUVINEL, MESQUITA et al, 2010).



**Figura 3:** Posição genômica relativa dos genes HLA dentro da região do braço curto do cromossomo 6, que contém o MHC humano, classes I (A) e II (B). Cadeias peptídicas das moléculas de MHC de classe I e classe II (C). Roteiro para interpretação da nomenclatura das especificidades e alelos do Complexo de Histocompatibilidade Principal MHC (D) (Fonte :CRUVINEL, MESQUITA et al, 2010).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GERAL**

Analisar a frequência de anticorpos antieritrocitários irregulares em pacientes politransfundidos em trabalhos realizados em Hemocentros do Brasil.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Analisar a frequência de anticorpos antieritrocitários presentes nos processos de transfusões de concentrados de hemácias, em receptores sensibilizados e/ou polissensibilizados;
- Analisar a frequência anticorpos irregulares sensibilizados e/ou polissensibilizados associados a cada tipo de doença;
- Identificar as técnicas empregadas na pesquisa e identificação dos anticorpos irregulares presentes nos processos de transfusões de concentrados de hemácias em receptores sensibilizados e/ou polissensibilizados.

## **4-METODOLOGIA**

### **4.1-Tipologia da pesquisa**

Trata-se de uma pesquisa descritiva, exploratória, retrospectiva com abordagem quantitativa. Neste trabalho foi realizada uma pesquisa de artigos publicados no Brasil no período de 2008 a 2015. As Bases de Dados utilizadas foram: Scopus, Scielo, Pubmed, Lilacs e Cochrane BVS.

### **4.2-Critérios de inclusão/exclusão**

Foram inclusos na pesquisa os artigos que continham a frequência ou identificação dos anticorpos irregulares durante o período citado, realizados no Brasil e publicados em língua portuguesa.

### **4.3 Seleção de descritores**

Para a pesquisa nas bases de dados foram utilizados os seguintes descritores:

Anticorpos Irregulares; Aloimunização; Anticorpos Antieritrocitários; PAI (Pesquisa de Anticorpos Irregulares); Imunohematologia; Fenotipagem; Reação Transfusional.

### **4.4 Estratégia de busca**

A revisão da literatura científica foi realizada para buscar e identificar as publicações a respeito da frequência de anticorpos irregulares em pacientes politransfundidos em Hemocentros no Brasil.

#### 4.5 FLUXOGRAMA DA METODOLOGIA



## 5- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados sete artigos e um relato de caso publicado entre os anos de 2008 a 2015 no Brasil. Desses, duas pesquisas realizadas na região Nordeste, quatro na Sudeste, uma na região Sul. O relato de caso foi realizado em uma cidade no estado do Paraná, também na região Sul.

**Tabela 1:** Principais dados dos artigos encontrados na revisão sistemática

Autor	Ano	n	Sexo	
			M	F
PINTO ALVES COSTA et al	2011	102	52	50
HELMAN RICARDO et al	2011	53	23	30
ALVES, MARTINS et al	2012	143	74	69
BAPTISTA, NARDIN et al	Não relatou	6.236	11	10
CRUZ, MOTA et al	2011	12.904	Não relatou	Não relatou
ALVES, MARTINS et al	2008	23.220	47	126
OLIVEIRA, BRAGA et al	2015	38.301	16.931	21.370
FERREIRA MAGALHÃES, RUZZON et al	2015	1		1

Quanto ao sexo dos pacientes, a maioria pertence ao sexo feminino, 21.656 pacientes (55,82%), sendo 17.138(44,18%) do sexo masculino. Somente um artigo não relatou o sexo dos pacientes. Estes fatos podem ser explicados, entre outros fatores, pelas gestações, que constituem um importante risco de sensibilização (WINTERS; PINEDA; GORDEN et al., 2001). A maioria dos trabalhos não descreveu com clareza se a idade influenciou a frequência de aloimunização dos pacientes politransfundidos. SCHONEWILLE e colaboradores em 1999 chegaram à conclusão que idade e sexo eram de nenhuma influência sobre a taxa de anticorpo formação. Já SEYFRIED e WALEWSKA em 1990, descobriram que a probabilidade de aloimunização é uma função quadrática de idade. SCHONEWILLE e colaboradores em outro estudo publicado em 2006, concluíram que a idade, o sexo, foram fatores significativos independentes para a especificidade do anticorpo.

De acordo com os resultados, os anticorpos dos sistemas Rh (71,45%) e Kell (11%) foram os mais encontrados, de um total de 1337 identificados, o que está de acordo com a literatura (ELHENCE, SOLANKI, VERMA, 2014; SANTOS,



MAGALHÃES, MOTA, PITOMBEIRA, 2007; SCHONEWILLE, HAAK, VAN ZIJL, 1999). A maior ocorrência de aloanticorpos é contra determinados antígenos dos sistemas Rh e Kell, porque os dois sistemas contêm antígenos fortemente imunogênicos.

O anticorpo mais frequentemente identificado foi o anti-D (27,45%). Estudos anteriores revelaram que pacientes com doenças agudas e crônicas foram responsáveis por 53,76% e 13,87% dos aloimunizados produziram anticorpos, respectivamente, contra antígenos dos sistemas Rh e Kell (MARTINS, ALVES, PEREIRA, MORAES SOUZA, 2005). Isso se deve ao fato de anticorpos do sistema Kell (Anti-K) serem encontrados frequentemente em pacientes multitransfundidos. Já a alta incidência do Anti-D está relacionada ao número de pacientes do sexo feminino em estado gestacional (aproximadamente 4%), uma vez que o antígeno D é considerado o mais imunogênico nos casos de incompatibilidade materno-fetal. Estudos anteriores (BAIOCHI, 2009; CRUZ, 2011; PINTO, 2011; RODRIGUES, 2013) corroboram os achados da presente investigação, indicando que a frequência elevada de anticorpos do grupo Rh e Kell, em pacientes transfundidos, ocorrem devido ao alto grau de imunogenicidade dos seus antígenos de membrana (BAICHI; NARDOZZA, 2009; CRUZ et al., 2011; PINTO et al., 2011; RODRIGUES et al., 2013). Observou-se ainda, concordando também com os achados da literatura (ELHENCE; SOLANKI; VERMA; 2014; SCHONEWILLE, BRAND; 2008), associações envolvendo mais de um tipo de anticorpo.

SCHONEWILLE e colaboradores concluíram, em estudo publicado 1999, que os anticorpos a partir dos sistemas Rh e Kell, representaram 73% dos anticorpos detectados. Eles também encontraram 71 anticorpos irregulares em 51 pacientes, para uma taxa de aloimunização de 9,0%.

Os pacientes receberam uma média de 16 transfusões. Cinquenta por cento dos anticorpos ocorreram após 13 transfusões, o que indica que a maioria dos anticorpos se formou precocemente durante o curso de transfusões. Fatores como a população de pacientes em estudo, a política de transfusão, o tempo e frequência dos testes, a sensibilidade do teste métodos e os conhecimentos técnicos da transfusão pessoal de laboratório desempenham um papel importante na diferença os resultados obtidos (SCHONEWILLE; HAAK; VAN ZIJL; 1999).

## Frequência de anticorpos irregulares

A frequência total de aloimunização de cada anticorpo irregular encontrado nos pacientes encontrada nos pacientes está descrita na tabela 2.

**Tabela 2:** Frequência total relativa e absoluta dos anticorpos irregulares em pacientes politransfundidos

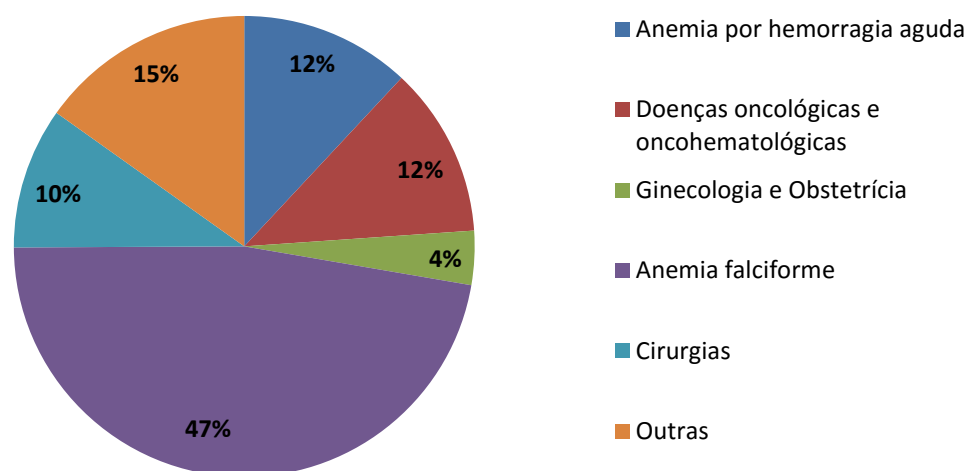
Anticorpo	Frequência	Número
Anti D	27,45%	367
Anti E	24,60%	329
Anti C	13,64%	182
Anti K	11,00%	147
Anti M	6,28%	84
Anti c	5,76%	77
Anti Fya	4,56%	61
Anti Dia	4,11%	55
Anti S	1,94%	26
Anti Lewis	0,45%	6
Anti Kpa	0,07%	1
Anti jkb	0,07%	1
Anti Lut	0,07%	1
<b>Total</b>	<b>100%</b>	<b>1337</b>

## Diagnóstico

Quanto ao diagnóstico, a maioria dos pacientes que necessitavam de transfusões sanguíneas recorrentes sofriam de doenças como anemia falciforme, anemia em decorrência de hemorragias agudas, doenças oncológicas e onco-hematológicas, cirurgias, ginecologia e obstetrícia, entre outras. Sendo que desses, três artigos não relataram o diagnóstico dos pacientes.

Pacientes que necessitam de repetidas transfusões por causa da depleção da medula óssea e sobrevida eritrocitária diminuída, fatos que os tornariam mais suscetíveis à produção de aloanticorpos antieritrocitários. Já os pacientes onco-hematológicos geralmente apresentam uma resposta imune mais lenta decorrente da própria doença de base ou do tratamento quimioterápico a que são submetidos, retardando a produção de anticorpos (SCHONEWILLE, HAAK, VAN ZIJL; 1999).

## Diagnóstico de pacientes politransfundidos



**Gráfico 1:** Pacientes politransfundidos em relação ao diagnóstico

Apenas três artigos relataram a tipagem sanguínea. Sendo a maioria dos pacientes tipo O e Rh positivo. Não foi descrita a tipagem sanguínea da paciente no relato de caso.

As técnicas para pesquisa de anticorpos irregulares identificadas foram as técnicas de Combs direto e indireto, feita em um artigo, gel centrifugação, utilizada em dois artigos. Quatro artigos não relataram as técnicas utilizadas na pesquisa desses anticorpos irregulares.

Identificação dos anticorpos: A técnica de painel de hemácias marcadas foi identificada em quatro artigos. Um artigo utilizou a técnica de gel centrifugação. Dois artigos não relataram as técnicas utilizadas na pesquisa e identificação dos anticorpos irregulares.

No relato de caso foi utilizada a técnica de gel centrifugação tanto na pesquisa quanto na identificação dos anticorpos irregulares. A paciente apresentava  $\beta$ -talassemia major. A frequência (n= 1) encontrada foi de um anticorpo anti-E, dois anticorpos anti-eritrocitários de baixa frequência: anti-Lutheran e anti-Colton

## **6.0- CONCLUSÃO**

Os anticorpos mais frequentes foram os do Sistema Rh seguido pelos anticorpos do Sistema Kell, MNS e Duffy. O antígeno D, do sistema Rh, é considerado o mais imunogênico. Contudo, com o aumento do emprego das transfusões sanguíneas nos tratamentos de doenças oncológicas, cirurgias e transplantes, passou-se a observar um aumento da ocorrência de aloimunização nos indivíduos politransfundidos.

As técnicas identificadas na pesquisa de anticorpos irregulares foram os testes de Coombs direto e indireto e a técnica de gel-centrifugação, e na identificação dos anticorpos irregulares foram o painel de hemácias e a técnica de gel-centrifugação.

Os pacientes diagnosticados com anemia falciforme, anemia por hemorragia aguda e doenças oncológicas foram os mais envolvidos na formação de anticorpos irregulares. Esses pacientes necessitam de múltiplas transfusões, por apresentarem doenças crônicas.

## 7.0- REFERÊNCIAS

- 1- ALVES, V. M. **Frequência de Aloanticorpos Irregulares Antieritrocitários em Receptores de Concentrados de Hemácias Atendidos com Emergências Médicas e/ou com Doenças Agudas no Hospital de Clínicas da UFTM.** 2010. 82 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-graduação em Patologia, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, 2010.
- 2- ALVES V. M., MARTINS PR, SOARES S., ARAÚJO G., SCHMIDT LC, COSTA SS, LANGHI DM, MORAES SOUZA H. **Pesquisa de aloimunização após transfusão de concentrados de hemácias em um estudo prospectivo.** Rev Bras Hematol Hemoter. 2012;34(3):206-11.
- 3- BAIOSCHI E., NARDOZZA LMM. **Aloimunização.** Rev Bras Ginecol Obstet. 2009; 31(6): 311-9.
- 4- BAPTISTA MW, NARDIN JM, STINNGHEN ST. **Aloimunização eritrocitária em pacientes de um hospital infantil atendido pelo Instituto Paranaense de Hemoterapia e Hematologia, de 2007 a 2010.** Cad Esc Saúde (Curitiba). 2011; 6 (2) :131-42.
- 5- BONIFÁCIO, S. L.; NOVARETTI, M. C. Z. **Funções biológicas dos antígenos eritrocitários.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter., v. 31, n. 2, p. 104-11, 2009.
- 6- CASTILHO L. **O futuro da aloimunização eritrocitária.** Rev. bras. hematol. hemoter. 2008; 30(4): 259-265.
- 7- CRUVINEL M W, MESQUITA J D, ARAÚJO P A J et al. **Sistema Imunitário – Parte I Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória, UNIFESP.** Rev Bras Reumatol 2010;50(4):434-61
- 8- CRUZ OLIVEIRA R., MOTA A. M., CONTI MENDES F., et al. **Incidência de aloimunização eritrocitária em pacientes politransfundidos.** Einstein. 2010; 9(2 Pt 1):173-8.

- 9- ELHENCE P.; SOLANKI A.; VERMA A. **Red Blood Cell Antibodies in Thalassemia Patients in Northern India: Risk Factors and Literature Review.** Indian J Hematol Blood Transfus (Oct-Dec 2014) 30(4):301–308.
- 10- FERREIRA MAGALHÃES A. R.; NOMURA RUZZON P.; DIAS BUCK J.et al. **Identificação de anticorpos anti-eritrocitários de baixa frequência em paciente politransfundida com beta-talassemia: relato de caso** Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 36, n. 1, supl, p. 325-332, ago. 2015.
- 11- GIRELLO A.L.; KUHN TIBB. **Fundamentos da imunohematologia eritrocitária.** São Paulo: Senac; 2002.
- 12-HELMAN RICARDO, DELFINI CANÇADO R., OLIVATTO C. **Incidência de aloimunização eritrocitária em pacientes com doença falciforme: experiência de um centro em São Paulo.** Einstein. 2011; 9(2 Pt 1):160-4
- 13- MARTINS, P. R. J. et al. **Frequência de anticorpos antieritrocitários irregulares em politransfundidos no Hemocentro Regional de Uberaba-MG, de 1997 a 2005.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter., v. 30, n. 4, p. 272-76, 2008.
- 14- MARTINS M. L. et al. **Uso da genotipagem de grupos sanguíneos na elucidação de casos inconclusivos na fenotipagem eritrocitária de pacientes atendidos na Fundação Hemominas.** Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2009; 31(4): 252-259.
- 15- MOTA MARQUES D, FREITAS CORADI R D, ARAÚJO DE NAVEGANTES W. **Avaliação do Sistema de Vigilância Sanitária do Sangue em âmbito federal, Brasil, 2007.** Ciência & Saúde Coletiva, 17(1):191-202, 2012
- 16- OLIVEIRA, R.C.; BRAGA, J.R.M. **Frequência de Anticorpos Irregulares em Serviço de Transfusão de Sangue em Salvador-BA, no Período de 2009 a 2013.** Rev. Eletrôn. Atualiza Saúde Salvador, v. 2, n. 2, jul./dez. 2015.
- 17- PEDROSA AK, PINTO FJ, LINS LD, DEUS GM. **Blood transfusion reactions in children: associated factors.** J Pediatr (Rio J). 2013; 89:400-6
- 18- PINTO ALVES COSTA P, PELLEGRINI BRAGA A J, SANTOS DOS N MIYASHIRO A. **Fatores de risco para aloimunização em pacientes com anemia falciforme.** Rev Assoc Med Bras 2011; 57(6):668-673.

- 19- SANTOS FWR, MAGALHÃES SMM, MOTA RMS, PITOMBEIRA, MH. **Aloimunização pós-transfusão de hemácias em pacientes com doenças agudas e emergências médicas.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2007; 29(4): 369-372.
- 20- SCHMIDT CL. **Genotipagem RhD fetal no plasma materno como ferramenta não invasiva na predição do risco da doença hemolítica perinatal em gestantes RhD negativo.** <disponível em : <http://www.pggenetica.icb.ufmg.br/defesas/142D.PDF> às 16:17h dia 28/04/2016. UFMG, 2010.
- 21- SCHONEWILLE H, BRAND A. **Does an alloimmune response to strong immunogenic red blood cell antigens enhance a response to weaker antigens?** Transfusion. 2008; 48(5): 958-963.
- 22- SCHONEWILLE H, HAAK HL, VAN ZIJL AM. **Alloimmunization after blood transfusion in patients with hematologic and oncologic diseases.** Transfusion. 1999; 39(7): 763-771
- 23- SCHONEWILLE H, VAN DE WATERING LMG, LOOMANS DSE, BRAND A. **Red blood cell alloantibodies after transfusion: factors influencing incidence and specificity.** Transfusion. 2006; 46(2): 250-256.
- 24-SCHONEWILLE H, VAN DE WATERING LM, BRAND A. **Additional red blood cell alloantibodies after blood transfusions in a nonhematologic alloimmunized patient cohort: is it time to take precautionary measures?** Transfusion. 2006;46(4):630-5.
- 25- SERRANO J. **Incidencia y caracterización de anticuerpos eritrocitários em un banco de sangre hospitalario.** Sangre (Barc). 1990;35(5):363-8.
- 26- SEYFRIED H, WALEWSKA I. **Analysis of immune response to red blood cell antigens in multitransfused patients with different diseases.** Mater Med Pol 1990;22:21-5.
- 27- THAKRAL B, SALUJA K, SHARMA RR, MRWAHA N. **Red cell alloimmunization in a transfused patient population: a study from a tertiary care hospital in north India.** Hematology. 2008;13(5):313-8.

28- WINTERS JL, PINEDA AA, GORDEN LD et al. **RBC alloantibody specificity and antigen potency in Olmsted County, Minnesota.** Transfusion. 2001;41(11):1413-20.